STATENS VÄXTSKYDDSANSTALT
MEDDELANDE N:r 62

UNDERSÖKNINGAR ÖVER UPPKOMST AV DDT-RESISTENS HOS KORNVIVEL, *CALANDRA GRANARIA* L.

AV

ROLF MATHLEIN

Med 8 tabeller och 1 diagram i texten.

ENGLISH SUMMARY



STOCKHOLM 1952

STATENS VÄXTSKYDDSANSTALT
MEDDELANDE N:r 62

UNDERSÖKNINGAR ÖVER UPPKOMST AV DDT-RESISTENS HOS KORNVIVEL, *CALANDRA GRANARIA* L.

AV

ROLF MATHLEIN

Med 8 tabeller och 1 diagram i texten.

ENGLISH SUMMARY



STOCKHOLM 1952



EMIL KIHLSTRÖMS TRYCKERI AB.

Stockholm 1952

Innehåll.

Inledning

Ett av de användningsområden, där DDT-preparat snabbt kommo att spela en dominerande roll, var bekämpandet av flugor i djurstallar. DDT-substansen befanns nämligen vara för ifrågavarande ändamål vida överlägsen alla tidigare kända insekticider. Redan år 1946, ett par år efter det att en mera allmän användning av DDT-preparat för flugbekämpning kommit igång, begynte emellertid de första uppgifterna om försämrad eller utebliven effekt hos desamma att bekantgöras. Undersökningar visade, att orsaken härtill var uppkomsten av DDT-resistenta populationer av flugor, enkannerligen husflugan, *Musca domestica,* på platser, där upprepad DDT-behandling av djurstallar förekommit (Wiesmann 1947). På senare år har utvecklingen nått därhän inom landet, att man i stor utsträckning nödgats frångå DDT-preparaten vid flugbekämpandet. I Danmark har detta resistensfenomen synbarligen uppträtt i än större omfattning (Keiding & van Deurs 1949). På senare år har samma utveckling konstaterats i många andra länder. Undersökningar i syfte att klarlägga DDT-resistensens natur hos husflugan ha upptagits av forskare i olika länder (Sternburg m. fl. 1950; Winteringham m. fl. 1951).

Från USA föreligga meddelanden om förekomst av DDT-resistenta populationer av stickmyggor i vissa kustområden i Florida, där myggbekämpning i stor skala företagits flera år i följd (Deonier m. fl. 1950). Några uppgifter om att en liknande utveckling iakttagits hos andra former av insekter än vissa dipterer synas hittilldags ej ha publicerats.

Frågan, huruvida även andra ekonomiskt eller hygieniskt viktiga insekter, för vilkas bekämpande DDT-preparat i stor utsträckning användas, kunna efterhand utveckla motståndskraftiga »raser», är självfallet av betydande intresse. Föreliggande arbete är en redogörelse för undersökningar, vilka förf. år 1950 påbörjade i syfte att förvärva kännedom om kornvivelns, *Calandra granaria,* förhållande i berörda hänseende. Denna skalbaggsart bedömdes vara ett ur flera synpunkter lämpligt försöksobjekt. Kornviveln är som bekant ett viktigt och kosmopolitiskt utbrett skadedjur på lagrad spannmål, den bekämpas numera i stor omfattning med DDT-preparat, dess uppträdande är biotopiskt väl avgränsat då den uteslutande förekommer i spannmålslager, och den är slutligen lätt att i laboratorium hålla i kultur och massföröka året om.

Förberedande försök

Utgångsmaterialet, 500 skalbaggar av varierande ålder, behandlades under 1 timme med överskott av ett 5 %-igt DDT-puder (Gesarol) och överfördes därefter i skålar med vetekärnor. De djur, vilka efter 14 dagar ej förlamats eller dött, 9 % av totala antalet, användes sedan som moderdjur till en ny generation. På grund av en mycket hög efterdödlighet hos nyssnämnda moderdjur blev avkomman dock ej tillräckligt individrik för att möjliggöra direkta fortsatta försök med densamma. Först i tredje generationen kunde samma DDT-behandling upprepas, fortfarande dock med begränsat och med avseende på skalbaggarnas ålder heterogent material. Samma blev förhållandet med den nästföljande, fjärde, generationen, d. v. s. den tredje för DDT-behandling utsatta. Antalet skalbaggar, som efter ovan beskrivna DDT-behandling icke förlamats efter 14 dagar, var i

1. generationen	=	45 av 500 (9 %)
2. »		inga försök; se ovan
3. »	=	87 av 350 (25 %)
4. »	=	225 av 500 (45 %).

Trots heterogeniteten hos djurmaterialet i nyssnämnda försök bör den slutsatsen vara tillåtlig, att en tendens till förhöjd motståndskraft mot DDT är för handen redan efter ett fåtal generationer. Att så är förhållandet, framgår för övrigt av den följande redogörelsen för fortsatta försök, utförda under kontrollerade betingelser. Dessa ha hittills omfattat de efterföljande fyra generationerna, vilka ha åsatts nummerordningen 4—7, i det att den obehandlade andra generationen ej inräknats i generationsföljden.

Uppfödnings- och behandlingsmetod. Terminologi

För försöken har använts en »försökspopulation», i det följande betecknad *fp*, vilkens olika generationer uppfötts under så långt möjligt lika betingelser beträffande näring, temperatur, fuktighet och populationstäthet. Parallellförsök ha ständigt utförts med djur, tillhörande en samtidigt med och på enahanda sätt som *fp* uppfödd »kontrollpopulation», betecknad *kp*, vilken aldrig tidigare varit utsatt för DDT-behandling. Kulturkärlen, glasburkar om 5 liters volym med 5 cm tjocka lager av vetekärnor (1 300 gram), ha förvarats intill varandra i lokal med jämn värme, där vetet bibragts och bibehållit en temperatur av 25 ± 1° C. Vetets fuktighetshalt har reglerats genom tillförsel av bestämda mängder vatten på filtrerpapper, placerade på träfiberplattor på vetets yta. Temperatur- och fuktighetsförhållandena ha hållits under kontroll genom regelbundna temperaturavläsningar i kärlen samt genom vattenhaltsanalyser på ur varje kärl uttagna veteprov.

Fp-generationerna ha uppdragits ur ägg, lagda av moderdjur tillhörande samma population, vilka efter DDT-behandling varit livskraftiga efter 14 dagar (moderdjur till 4:e och 5:e generationerna) eller 21 dagar (moderdjur till följande generationer). För uppdragning av *kp*-generationerna ha städse använts obehandlade moderdjur, likåldriga med och i samma antal som till *fp*. Dessa moderdjur ha avlägsnats ur kulturkärlen efter fyra veckor. Nykläckta skalbaggar ha därefter frånsållats i olika omgångar, samtidigt ur alla kulturkärl, och förvarats i kärl med vete fram till tidpunkten för försöken.

I alla försök med DDT-puder har använts samma 5 %-iga preparat. Som behandlingskärl ha använts 9 cm-petriskålar, vilkas botten beströtts med överskott (30 mgr) av pudret, varefter skalbaggarna placerats i desamma. Djuren ha därvid genomgående varit efter kort stund allsidigt behäftade med puder. Efter 20 timmar ha skalbaggarna för någon minut placerats i rent kärl, varunder petriskålen rentorkats från puder samt försetts med 30 gram vetekärnor. Observeras bör, att i de tidigare relaterade förberedande försöken avlägsnades överskottspuder samt tillfördes vete redan efter 1 timme. Försöksledet har omfattat 5—7 upprepningar à 100 skalbaggar.

Skalbaggarnas reaktion har betecknats på följande sätt:

Vitala = normalt beteende.

Påverkade = förmåga att krypa, men tydliga förgiftningssymptom i form av ej koordinerade rörelser.

Ej förlamade = vitala jämte påverkade, sammanslagna till gemensam grupp.

Förlamade = oförmåga att krypa.

Döda = permanent rygg läge utan för blotta ögat synliga rörelser.

DDT-puder, tidsbestämd kontakt

I tabell 1 återges försök med unga skalbaggar av 4:e generationen, kläckta i vete med 12,5 resp. 16 % vattenhalt. Försöksled, omfattande obehandlade skalbaggar från resp. population, ingingo i såväl detta som alla följande försök men ha icke medtagits i tabellerna, enär praktiskt taget ingen dödlighet förekom i desamma.

En större motståndskraft hos *fp* är som synes klart framträdande 5 dagar efter behandlingen. Efter 14 dagar, då även skalbaggarna ur *fp* med några få undantag förlamats eller dött, har dock skillnaden mellan *fp* och *kp* till största delen utjämnats. Inom *fp* föreligger ingen skillnad beträffande motståndskraften mellan skalbaggar, härrörande från torrare resp. fuktigare vete, men väl inom *kp*, där skalbaggarna från det torra vetet äro tydligt motståndskraftigare. Orsaken kan vara skiljaktigheter med avseende på pudermedlets fysikaliska verkan, dess s. k. »Zachereffekt» (ZACHER).

Tabell 1. *Effekt av DDT-puder på 5 ± 3 dagar gamla kornvivlar av 4:e generatione*

Table 1. Effect of DDT-powder upon grain weevils, 5 ± 3 days old, 4-th generation.

Upprepning Replicate no.	Skalbaggar ur vete med 12,5 % vattenhalt Beetles from wheat of 12,5 % water content								Skalbaggar ur vete med 16 % vattenh Beetles from wheat of 16 % water conter						
	% efter 5 dagar after 5 days				% efter 14 dagar after 14 days				% efter 5 dagar after 5 days				% efter 14 da after 14 days		
	vitala vigorous	påverkade affected	förlamade paralyzed	döda dead	vitala vigorous	påverkade affected	förlamade paralyzed	döda dead	vitala vigorous	påverkade affected	förlamade paralyzed	döda dead	vitala vigorous	påverkade affected	förlamade paralyzed
fp 1.	17	4	69	10	1	1	6	92	14	9	60	17	0	0	2
2.	11	16	60	13	0	2	3	95	21	23	47	9	0	0	4
3.	21	25	40	14	1	1	1	97	33	3	51	13	0	0	9
4.	28	16	47	9	0	1	4	95	49	13	29	9	0	0	6
5.	24	13	42	21	0	0	3	97	33	10	36	21	0	0	2
kp 1.	11	14	64	11	0	0	0	100	1	1	27	71	0	0	0
2.	3	7	73	17	0	0	3	97	2	6	25	67	0	0	0
3.	7	17	58	18	0	0	1	99	3	7	17	73	0	0	0
4.	5	25	54	16	0	0	2	98	0	0	28	72	0	0	0
5.	8	30	52	10	0	0	0	100	1	0	16	83	0	0	0
m *fp*	20,2	14,8	51,6	13,4	0,4	1,0	3,4	95,2	30,0	11,6	44,6	13,8	0,0	0,0	4,6
m *kp*	6,8	18,6	60,2	14,4	0,0	0,0	1,2	98,8	1,4	2,8	22,6	73,2	0,0	0,0	0,0

Vid försöken med 5:e, 6:e och 7:e generationerna användes genomgående skalbaggar av 40 ± 5 dagars ålder (förutom i vissa specialförsök, för vilka redogöres i annat sammanhang), kläckta i vete med en vattenhalt av 14,5 ± 1 %. Den 5:e generationen av *fp* härstammade från föräldrar, vilka voro vitala 14 dagar efter en blott 3 timmars DDT-behandling; en 20 timmars behandling med DDT gav nämligen ännu i föregående generation alltför lågt antal överlevande.

Av tabellerna 2, 3 och 4 framgår, att en större motståndskraft hos *fp* genomgående är starkt markerad. Så t. ex. voro i försök med 5:e generationen samtliga skalbaggar ur *kp* efter 21 dagar döda, under det att av skalbaggarna ur *fp* över 30 % ej förlamats och dödligheten stannade vid 66 %. Den stora skillnaden i motståndskraft mellan de båda populationerna förtydligas av följande hopsummering av antalet förlamade och döda djur:

	efter 5 dagar	14 dagar	21 dagar
fp	3 %	42 %	68 %
kp	33 %	95 %	100 %

Tabell 2.

Effekt av DDT-puder på 40 ± 5 dagar gamla kornvivlar av 5:e generationen.

Table 2. Effect of DDT-powder upon grain weevils, 40 ± 5 days old, 5-th generation.

Upprepning Replicate no.	% efter 5 dagar after 5 days			% efter 14 dagar after 14 days			% efter 21 dagar after 21 days			% efter 28 dagar after 28 days		
	ej förlamade not paralyzed	förlamade paralyzed	döda dead	ej förlamade not paralyzed	förlamade paralyzed	döda dead	ej förlamade not paralyzed	förlamade paralyzed	döda dead	ej förlamade not paralyzed	förlamade paralyzed	döda dead
fp 1.	94	6	0	69	24	7	42	5	53	32	0	68
2.	98	2	0	76	18	6	45	0	55	35	0	65
3.	95	5	0	63	27	10	32	3	65	26	0	74
4.	98	2	0	53	31	16	27	3	70	17	0	83
5.	97	3	0	51	31	18	32	0	68	28	0	72
6.	98	2	0	52	29	19	32	1	67	28	0	72
7.	96	4	0	45	42	13	12	0	88	7	0	93
kp 1.	63	33	4	7	38	55	0	0	100	—	—	—
2.	65	31	4	0	42	58	0	0	100	—	—	—
3.	61	38	1	6	35	59	0	0	100	—	—	—
4.	73	24	3	10	40	50	0	0	100	—	—	—
5.	56	41	3	2	32	66	0	0	100	—	—	—
6.	65	34	1	4	40	56	0	0	100	—	—	—
7.	83	13	4	8	33	59	0	0	100	—	—	—
m *fp*	96,6	3,4	0,0	58,4	28,8	12,7	31,7	1,7	66,5	24,7	0,0	75,3
m *kp*	66,6	30,6	2,9	5,3	37,1	57,6	0,0	0,0	100,0	—	—	—

De ännu efter 28 dagar fortlevande skalbaggarna ur *fp*, 25 % av ursprungliga antalet DDT-behandlade djur, voro genomgående vitala och gåvo vid uppförökning upphov till en individrik ny generation.

Enär försöken med de olika generationerna utförts med flera månaders mellantider (generationerna 5—7 under perioden juni 1951—januari 1952), har det ej varit möjligt att garantera full enhetlighet generationerna emellan i fråga om de faktorer av olika slag, som kunnat påverka de siffermässigt erhållna resultaten. Den i tabell 4 givna sammanställningen pekar dock i stort sett på en fortgående stegring av DDT-motståndskraften hos *fp*.

Tabell 5 återger jämförande försök med skalbaggar av två olika åldersgrupper, nämligen 40 ± 5 resp. 85 ± 5 dagar, av 7:e generationen; ett liknande försök utfördes även i 5:e generationen med samma resultat. De äldre djuren hade mot DDT-behandlingen en tydligt lägre motståndskraft än de yngre.

Tabell 3. *Effekt av DDT-puder på 40 ± 5 dagar gamla kornvivlar av 6:e och 7:e generationerna.*

Table 3. Effect of DDT-powder upon grain weevils, 40 ± 5 days old, 6-th and 7-th generations.

Upprepning Replicate no.	6. generationen 6-th generation						7. generationen 7-th generation					
	% eft. 5 dag. after 5 days		% eft. 14 dag. after 14 days		% eft. 21 dag. after 21 days		% eft. 5 dag. after 5 days		% eft. 14 dag. after 14 days		% eft. 21 dag. after 21 days	
	ej förlamade not paralyzed	döda dead	ej förlamade not paralyzed	döda dead	ej förlamade not paralyzed	döda dead	ej förlamade not paralyzed	döda dead	ej förlamade not paralyzed	döda dead	ej förlamade not paralyzed	döda dead
fp 1.	87	7	78	17	66	24	98	2	76	8	42	50
2.	86	2	60	20	47	47	100	0	77	7	28	55
3.	79	6	67	26	61	36	100	0	66	24	43	50
4.	79	5	73	23	63	37	100	0	78	12	45	46
5.	86	1	79	12	52	32	99	0	78	13	50	40
6.	82	6	74	20	64	34	—	—	—	—	—	—
kp 1.	34	12	18	64	4	93	96	2	14	68	3	95
2.	45	11	10	71	1	98	97	2	9	66	2	95
3.	36	13	6	58	0	99	98	0	20	56	4	92
4.	43	13	13	63	1	97	95	4	14	65	2	93
5.	46	17	19	55	0	96	97	1	10	75	0	99
6.	42	12	9	74	1	98	—	—	—	—	—	—
m *fp*	83,1	4,5	71,9	19,7	58,8	35,0	99,4	0,4	75,0	12,8	41,6	48,2
m *kp*	41,0	13,0	12,5	64,1	1,1	96,8	96,6	1,8	13,4	66,0	2,2	94,8

DDT-beläggning, permanent kontakt

En 1 %-ig lösning av DDT i s. k. kristallolja fördelades i form av en jämn film över botten av 9 cm-petriskålar i en kvantitet av 0,32 kbcm per skål. Skålarna överpudrades efter någon vecka med ett mycket tunt, ej täckande lager av mjöl, varefter skalbaggar placerades i desamma. Ett dygn efteråt försågs varje skål med ett enkelt lager av vetekärnor.

Försök enligt ovan beskrivna metod, med skalbaggarna i mer eller mindre permanent kontakt med DDT-beläggning, utfördes som parallellförsök till de förut relaterade puderförsöken med tidsbestämd kontakt, dels i 5:e, dels i 7:e generationen. Resultatet av ett försök med skalbaggar av 7:e generationen återfinnes i tabell 6. Den permanenta DDT-kontakten har genomgående åstadkommit förlamning och slutligen död hos alla försöksdjur av såväl *fp* som *kp*, låt vara att detta inträffat senare inom *fp* än inom *kp*.

Tabell 4. *Effekt av DDT-puder på 40 ± 5 dagar gamla kornvivlar av 5:e 7:e generationerna; sammandrag av tabellerna 2 och 3.*

Table 4. Effect of DDT-powder upon grain weevils, 40 ± 5 days old, 5 -7-th generations; concentrate of tabl. 2—3.

Generation	% ej förlamade, medeltal Not paralyzed, mean %			% döda, medeltal Dead, mean %		
	efter 5 dagar after 5 days	efter 14 dagar after 14 days	efter 21 dagar after 21 days	efter 5 dagar after 5 days	efter 14 dagar after 14 days	efter 21 dagar after 21 days
fp 5.	96,6 ± 0,4	58,4 ± 17,8	31,7 ± 16,5	0,0	12,7 ± 3,9	66,5 ± 18,9
kp 5.	66,6 ± 11,2	5,3 ± 1,7	0,0	2,9 ± 0,2	57,6 ± 3,4	100,0
fp 6.	83,1 ± 2,2	71,9 ± 8,6	58,8 ± 9,5	4,5 ± 1,0	19,7 ± 3,9	35,0 ± 9,3
kp 6.	41,0 ± 4,0	12,5 ± 4,4	1,1 ± 0,2	13,0 ± 0,7	64,1 ± 8,9	96,8 ± 0,7
fp 7.	99,4 ± 0,2	75,0 ± 5,2	41,6 ± 13,5	0,4 ± 0,1	12,8 ± 9,1	48,2 ± 6,2
kp 7.	96,6 ± 0,2	13,4 ± 3,7	2,2 ± 0,4	1,8 ± 0,4	66,0 + 9,3	94,8 ± 1,4

Motståndskraft mot vissa andra insekticider

I tabell 7 återges ett jämförande försök med pulverformiga preparat av DDT (5 %-igt), Chlordane (5 %-igt) och Pyretrum-Piperonylbutoxid (0,25/4,0 %-igt). Skalbaggarna, vilka voro av 7:e generationen, behandlades med överskott av puder under 20 timmar.

Anmärkningsvärt nog företer *fp* en avsevärt större motståndskraft än *kp* ej blott mot DDT utan även mot pyretrum-piperonylbutoxid. De ca 11 procenten av skalbaggarna ur *fp*, vilka överlevde behandlingen med sistnämnda preparat, voro efter 21 dagar vitala; observeras bör även den återhämtning från inträdd förlamning, som i betydande utsträckning förekom inom *fp*. Av de 500 skalbaggarna ur *kp* voro däremot samtliga utom ett exemplar förlamade eller döda redan inom 5 dagar, och alla utom en voro efter 21 dagar döda.

Chlordane-preparatet har däremot haft 100 %-ig förlamande och dödande verkan på skalbaggarna ur såväl *fp* som *kp*. Av tabellen, vilken återger siffrorna endast för »icke förlamade» djur, framgår ingen skillnad i motståndskraft mot Chlordane mellan de båda populationerna. En viss sådan förefanns emellertid, i det att medelprocenten efter 5 dagar döda skalbaggar var för *fp* = 2,5 och för *kp* = 37. Efter 14 dagar voro samtliga skalbaggar ur båda populationerna döda. Genom kompletterande experiment fastslogs, att förefintlig gasverkan hos preparatet icke varit utslagsgivande för resultatet.

De erhållna resultaten med pyretrum-piperonylbutoxid kunna tolkas så att genom selektion erhållits en population *fp* med allmänt förhöjd »livskraft» snarare än en sådan med specifik DDT-resistens. Frågan står dock ännu öppen, så länge utvidgade och kompletterande undersökningar ej ut-

Tabell 5.

Effekt av DDT-puder på kornvivlar av olika ålder; 7:e generationen.

Table 5. Effect of DDT-powder upon grain weevils of different ages; 7-th generation.

Upprepning Replicate no.	Ålder 40 ± 5 dagar Age 40 ± 5 days % förlamade och döda efter paralyzed and dead after			Ålder 85 ± 5 dagar Age 85 ± 5 days % förlamade och döda efter paralyzed and dead after		
	5 dagar 5 days	14 dagar 14 days	21 dagar 21 days	5 dagar 5 days	14 dagar 14 days	21 dagar 21 days
fp 1.	2	24	58	11	32	72
2.	0	23	72	22	60	91
3.	0	34	57	6	45	83
4.	0	22	55	11	56	78
5.	1	22	50	13	63	90
kp 1.	4	86	97	75	99	100
2.	3	91	98	70	99	100
3.	2	80	96	83	100	100
4.	5	86	98	89	99	100
5.	3	90	100	88	100	100
m *fp*	0,6	25,0	58,4	12,6	51,2	82,8
m *kp*	3,4	86,6	97,8	81,0	99,4	100,0

förts. I facklitteraturen för de senaste åren återfinnas flera redogörelser för liknande jämförande försök med olika typer av insekticider på DDT-resistenta flugstammar. Resultaten äro emellertid i hög grad varandra motsägande. Medan man i vissa försök konstaterat en allmänt stegrad motståndskraft mot såväl klorerade kolväten som pyretrin och rotenon (WILSON & GAHAN 1948), har man i andra funnit en parallellitet beträffande resistensen blott mellan DDT och föreningar med DDT-liknande struktur såsom metoxyklor och DDD (KEIDING & VAN DEURS 1949). Som ytterligare exempel kan nämnas, att i försök med DDT-restitent stam av *Drosophila* befanns en något förhöjd resistens föreligga även mot övriga till gruppen klorerade kolväten hörande insekticider men icke mot exempelvis pyretrum eller parathion (WEINER & CROW 1951).

Storleksdifferenser mellan skalbaggar med olika motståndskraft mot DDT

Tabell 8 och diagram 1 återge resultatet av storleksmätningar, som utförts på skalbaggar av 7:e generationen. Dessa mätningar ha omfattat 100 slump-

Tabell 6. *Effekt av permanent DDT-kontakt på 44 ± 2 dagar gamla kornvivlar av 7:e generationen.*

Table 6. Effect of permanent DDT-contact upon grain weevils, 44 ± 2 days old, 7-th generation.

Upprepning Replicate no.	efer 5 dagar after 5 days			efter 14 dagar after 14 days			efter 21 dagar after 21 days		
	% ej förlamade not paralyzed	% förlamade paralyzed	% döda dead	% ej förlamade not paralyzed	% förlamade paralyzed	% döda dead	% ej förlamade not paralyzed	% förlamade paralyzed	% döda dead
fp 1.	97	3	0	1	69	30	0	1	99
2.	87	13	0	0	73	27	0	1	99
3.	96	4	0	1	73	26	0	2	98
4.	89	11	0	18	68	14	0	15	85
5.	91	9	0	1	72	27	0	2	98
kp 1.	74	26	0	0	15	85	0	0	100
2.	63	37	0	0	15	85	0	0	100
3.	72	28	0	0	19	81	0	0	100
4.	65	35	0	0	20	80	0	0	100
5.	63	37	0	0	12	88	0	0	100
m *fp*	92,0	8,0	0,0	4,2	71,0	24,8	0,0	4,2	95,8
m *kp*	67,4	32,6	0,0	0,0	16,2	83,8	0,0	0,0	100,0

vis uttagna exemplar av skalbaggar från vardera av de fyra i tabellen angivna grupperna. Täckvingarnas längd samt halssköldens längd och bredd har bestämts på varje djur. Proportionerna mellan dessa mått voro desamma inom alla grupper. I tabellen och diagrammet har täckvingarnas längd använts som måttstock.

En jämförelse mellan grupperna »obehandlade» visar på en tendens i riktning mot mera storvuxna djur inom *fp* än inom *kp*. Skillnaden beträffande storlekstyp blir rätt starkt markerad, när extremerna, d. v. s. gruppen mest motståndskraftiga inom *fp* resp. minst motståndskraftiga inom *kp* ställas mot varandra. Ett visst positivt samband mellan storvuxenhet och motståndskraft mot DDT synes följaktligen vara för handen. Det är dock ej uteslutet, att den tidigare berörda »Zacher-effekten» (sid. 7), i den mån en sådan effekt förefinnes hos det använda DDT-pudret, kunnat påverka resultatet med avseende på de båda ovannämnda extrema grupperna, nämligen ifall skalbaggarnas storlek kan inverka på intensiteten hos denna effekt. Vidare framgår det, att av de extremt motståndskraftiga skalbaggarna 15 % dock falla inom de två lägsta storleksklasserna och av de extremt känsliga

Tabell 7. *Effekt av DDT, Chlordane och Pyretrum-piperonylbutoxid på 75 ± 4 dagar gamla kornvivlar av 7:e generationen.*

Table 7. Effect of DDT, Chlordane and Pyrethrum-Piperonylbutoxid upon grain weevils, 75 ± 4 days old, 7-th generation.

Upprepning Replicate no.	% ej förlamade skalbaggar not paralyzed beetles								
	DDT			Chlordane			Pyretr.-piperonylb.		
	5 dagar 5 days	14 dagar 14 days	21 dagar 21 days	5 dagar 5 days	14 dagar 14 days	21 dagar 21 days	5 dagar 5 days	14 dagar 14 days	21 dagar 21 days
fp 1.	100	33	21	0	0	0	8	16	13
2.	100	35	17	0	0	0	5	13	13
3.	100	37	12	0	0	0	12	10	10
4.	100	44	20	0	0	0	11	13	9
5.	100	61	26	0	0	0	18	13	9
kp 1.	64	0	0	0	0	0	0	1	1
2.	68	0	0	0	0	0	0	0	0
3.	63	1	1	0	0	0	1	0	0
4.	64	0	0	0	0	0	0	0	0
5.	65	0	0	0	0	0	0	0	0
m *fp*	100,0	42,0	19,2	0,0	0,0	0,0	10,8	13,0	10,8
m *kp*	64,8	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2

likaledes 15 % inom de två högsta storleksklasserna. Skillnaderna mellan de fyra grupperna beträffande fördelningen av djuren på storleksklasser äro över huvud ej av sådan pregnans, att de motsvara de stora skillnaderna i motståndskraft mot DDT. Frågan, huruvida storvuxenheten eller småvuxenheten hos skalbaggarna i och för sig är någon faktor av betydenhet för DDT-resistensen bör emellertid vid fortsatta undersökningar uppmärksammas.

Sammanfattning.

Riktlinjer för fortsatta undersökningar

DDT-behandling av kornvivlar, upprepad generation efter generation, resulterar inom jämförelsevis kort tid i en population med avsevärt förhöjd motståndskraft mot nämnda insekticid. Exempelvis ha i 5:e generationen c:a 30 % av skalbaggarna från »försökspopulationen» *(fp)* förblivit oskadade av en tidsbestämd kontakt med överskott av DDT-puder, vilken haft 100 %-igt dödande verkan på skalbaggarna från »kontrollpopulationen» *(kp)*; tabell 2. Motståndskraften hos *fp* gentemot DDT är dock ej av någon

Tabell 8. *Fördelning på storleksgrupper. Skalbaggar av 7:e generationen.*

Table 8. Distribution of grain weevils in groups of size, 7-th generation.

Population och behandling Population and treatment	Summa antal skalb. Total number of beetles	Täckvingarnas längd, mm Length of elytra, mm				
		— — 1,73	1,80	1,87	1,95	2,02 — —
fp, obehandlade .... *fp*, non-treated	100	10	20	42	23	5
kp, obehandlade .... *kp*, non-treated	100	19	30	34	13	4
fp, DDT-behandlade, vitala efter 21 dagar ... *fp*, treated with DDT, vigor. after 21 days	100	2	13	28	44	13
kp, DDT-behandlade, döda efter 5 dagar ...... *kp*, treated with DDT, dead after 5 days	100	30	21	35	11	3

absolut karaktär, enär ännu i 7:e generationen en permanent kontakt med DDT-beläggning verkar 100 %-igt förlamande och dödande även på skalbaggar ur *fp;* tabell 6.

Försök, utförda med skalbaggar av 7:e generationen, ha visat, att *fp* företer en väsentligt större motståndskraft även mot pyretrum-piperonylbutoxid; tabell 7. En behandling med ett dylikt preparat, som resulterat i praktiskt taget total dödlighet för *kp* inom kort tid, har på djur av *fp* haft en ur bekämpningssynpunkt otillfredsställande effekt. Vid behandling med Chlordane-preparat har däremot ingen väsentlig skillnad beträffande motståndskraften förefunnits mellan de båda populationerna; 100 % dödlighet har inom samma tid blivit följden.

Storleksmätningar av skalbaggar ha ådagalagt ett visst positivt samband mellan storvuxenhet och motståndskraft mot DDT; tabell 8 och diagram 1. Djurens storlek är emellertid sannolikt ej någon faktor av väsentlig betydelse i detta sammanhang.

Fortsatta undersökningar avse att klarlägga, huruvida den motståndskraftiga populationens utveckling går i riktning mot fullständig DDT-resistens, ävensom i vad mån den uppkomna motståndskraften är stabil eller ej. Av betydelse är vidare att upptaga undersökningar över de skiljaktigheter i morfologiskt och fysiologiskt hänseende, som kunna förefinnas mellan motståndskraftiga och icke-motståndskraftiga populationer. I samband med de i inledningen refererade undersökningarna över DDT-resistens hos flugor har man sålunda kunnat fastställa, att dylika skillnader förefinnas mellan resistenta och icke resistenta »raser» av husflugan (WIESMANN 1947). Vidare

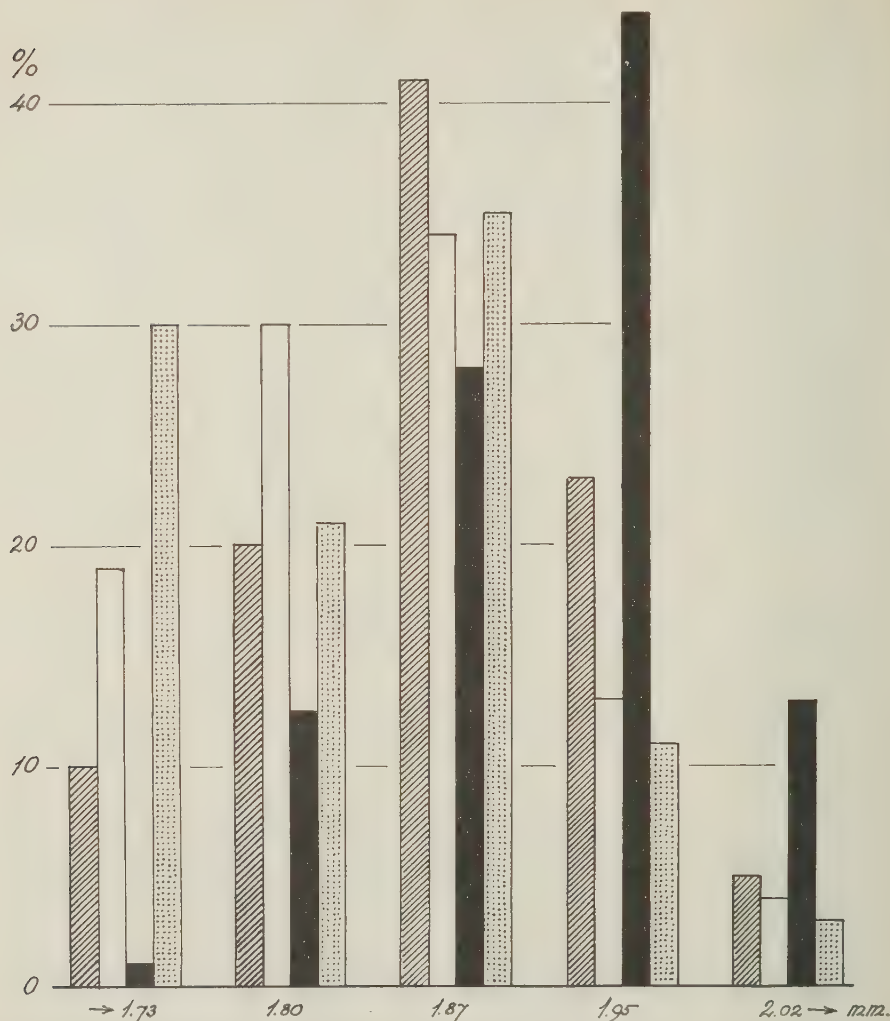


Diagram 1. Fördelning av kornvivlar på storleksgrupper. Streckat = *fp* obehandlade, vitt = *kp* obehandlade, svart = *fp* överlevande efter DDT-behandling, prickat = *kp* döda inom 5 dagar efter DDT-behandling.

Diagram 1. Distribution of grain weevils in groups of size. Lined = *fp* non-treated, white = *kp* non-treated, black = *fp* surviving after treatment with DDT, dotted = *kp* dead within 5 days after treatment with DDT.

ha morfologiska olikheter mellan insektformer, vilka generellt karakteriseras av hög resp. låg motståndskraft mot DDT, varit föremål för undersökningar (HAYES & LIU).

Summary.

Title: Investigations into the Development of Resistance to DDT in the Grain Weevil, Calandra granaria L.

The resistance to DDT that in recent years has been found to have developed extensively in certain Diptera, notably the common house-fly, *Musca domestica* L., has actualized the question as to whether the same development is probable or conceivable also in other forms of insects of economic or hygienic importance which are controlled by DDT-preparations.

The present work is an account of the investigations carried out for the purpose of ascertaining the behaviour of the grain weevil, *Calandra granaria* L., in the said respect. The grain weevil has been chosen as being a suitable experimental insect in several respects. It is an important pest, which is now extensively combated with DDT-preparations. Its biotope is well delimited since it occurs almost exclusively in stocks of grain, it reproduces fairly quickly and is easy to breed all the year round in a laboratory.

Preliminary Tests.

The original material, 500 beetles of varying age, was treated for one hour with an excess of 5 % DDT-powder and was then transferred to dishes containing wheat kernels. The beetles that were not paralyzed or dead after 14 days constituted 9 % of the total number and were used to produce a new generation. Owing to very high subsequent mortality the said beetles were, however, unable to create a sufficiently numerous progeny to enable directly continuous tests to be made with these. It was not until the third generation that it was possible to repeat the same treatment with DDT, although still with a limited material of beetles of heterogeneous agė. The position was the same with the next (fourth) generation, i. e. the third subjected to treatment with DDT. The number of beetles not paralyzed within 14 days after the same DDT-treatment was:

in the	1st	generation:	45 of 500 = 9 %
» »	2nd	»	: no tests
» »	3rd	»	: 87 of 350 = 25 %
» »	4th	»	: 225 of 500 = 45 %.

In spite of the heterogeneity of the beetle material the results should permit the following conclusion to be drawn; viz. that a tendency towards increased resistance to DDT already exists after a few generations.

The following tests were carried out under controlled conditions and have hitherto comprised 4—7 generations (excluding the untreated second generation).

Breeding and Treatment. Terminology.

A »test-population» (= *fp)* and a »control-population» (= *kp)* were bred parallelly under the same conditions in respect of food, temperature, moisture and density of population. Each new generation was thus reared concurrently in both populations, the same number of beetles (belonging to the respective populations) of the same age in the same weights of grain (wheat kernels) of homogeneous character being used. *Fp* was propagated from beetles that after treatment with DDT were vigorous at the end of 14 days (4th generation) or 21 days (5th and succeeding generations). *Kp* was propagated from untreated beetles.

In all the tests with DDT-powder the same 5 % preparation was used. The containers used for the experiments were petri-dishes (9 cm), whose bottoms were strewn with an excess of the powder, after which the beetles were placed in them. After 20 hours the beetles were removed to clean containers for some minute, the petri-dishes being wiped clean from the powder and supplied with 30 g of wheat kernels in the meantime. Each test comprised 5—7 replications à 100 beetles.

The beetles in respect of their reaction have been classified as follows:

Vigorous = normal behaviour.

Affected = ability to crawl but distinct symptoms of poisoning in the form of inability to co-ordinate movements.

Paralyzed = no or only momentary ability to crawl.

Dead = permanently on their backs without movement apparent to the naked eye.

Tests with DDT-powder, Time-limited Contact.

Table 1 shows tests with young beetles of the 4th generation, propagated in wheat with a water content of 12.5 and 16 % respectively. The higher resistance that was clearly marked in *fp* 5 days after the treatment had become almost evened out after 14 days.

In the tests with the 5th, 6th and 7th generations, beetles aged 40 ± 5 days were used throughout, except in some special tests which are described elsewhere. The 5th generation of *fp* originated from parents that were vigorous 14 days after a 3-hour treatment with DDT; a 20-hour treatment with DDT still yielded in the preceding generation a too low number of survivors to ensure a satisfactory propagation of a new generation. Tables 2, 3 and 4 make it clear that the higher resistance in *fp* is strongly marked throughout.

Table 5 shows comparative tests with beetles of two different age-groups. The resistance will be seen to be distinctly less in the higher age-group than in the lower group.

Tests with DDT-film, Permanent Contact.

The beetles were placed in petri-dishes, whose bottoms a week or so previously had been washed with a 1 % solution of DDT in kerosene in amounts of 0.32 cc per dish. 24 hours after the beetles had been placed in these, each dish was supplied with a single layer of wheat kernels. The effect of a DDT-film of this kind was tested both in the 5th and in the 7th generation, with uniform results. The permanent contact with the DDT-film caused general paralysis and ultimate death in all the experimental insects of *fp* and *kp* alike. See Table 6.

Resistance to Certain Other Insecticides.

Table 7 shows a comparative test with a powder preparation of DDT (5 %), Chlordane (5 %) and Pyrethrum-Piperonylbutoxide (0.25/4.00 %). The beetles were treated with an excess of powder during 20 hours.

The beetles from *fp* proved to have a much greater resistance not only to DDT but also to P.-P. The c. 11 % from *fp* that survived treatment with the latter preparation were vigorous at the end of 21 days; remarkable was also the recovery from paralysis that took place on a considerable scale in *fp*. Of the 500 experimental insects from *kp* all except one specimen were either paralyzed or dead in 5 days; all except one were dead in 21 days.

With the Chlordane preparation, on the other hand, a 100 % effect was obtained in the case of *fp*, too. At the end of 5 days the mortality was 2.5 % for *fp* and 37 % for *kp;* and at the end of 21 days 100 % for both populations.

It is hoped that continued investigations will solve the question as to whether through selection a population of *fp* with generally increased resistance had been produced rather than one with a specific resistance to DDT.

Differences in Size between Beetles with Varying Resistance to DDT.

Table 8 and Diagram 1 show the results of measurements of beetles from the 7th generation. A certain positive correlation between large size and increased resistance can be discerned, and the difference in size type is clearly marked when a comparison is made between the group of extremely resistant and the group of extremely sensitive beetles. However, it is also clear that the differences between the groups in respect of the distribution into size classes are not of such a nature as to reflect the great differences in respect of resistance to DDT.

Directions for Continued Investigations.

It should be ascertained whether the development, when treatment with DDT is continued, goes in the direction of absolute resistance to DDT and to what extent the increased resistance is stable or not. It is also important to examine the morphological and physiological dissimilarities that may occur between resistant and non-resistant populations respectively. The studies with regard to the resistance to other types of insecticides than DDT should be continued.

Litteratur.

DEONIER, C. C., CAIN jr T. L. & Mc DUFFIE, W. C., 1950. Aerial Spray Tests on Adult Salt-marsh Mosquitoes resistant to DDT. Journ. Econ. Ent., Vol. 43 no. 4, Menasha, Wis.

HAYES, W. P. & LIU, YU-SU, 1947. Tarsal Chemoreceptors of the Housefly and their possible Relation to DDT-Toxicity. Ann. ent. Soc. Amer., 40 no. 3. Columbus, Ohio.

KEIDING, J. & VAN DEURS, H., 1949. DDT-resistance in Houseflies in Denmark. Nature, Vol. 163. London.

STERNBURG, J., KEARNS, C. W. & BRUCE, W. N., 1950. Absorption and Metabolism of DDT by resistant and susceptible House-Flies. Journ. Econ. Ent., Vol. 43 no. 2. Menasha, Wis.

WEINER, R. & CROW, J. F., 1951. The Resistance of DDT-resistant Drosophila to other Insecticides. Science, 113. New York.

WIESMANN, R., 1947. Untersuchungen über das physiologische Verhalten von Musca domestica L. verschiedener Provenienzen. Mitt. Schweiz. Ent. Ges., Vol. 20. Bern.

WILSON, H. G. & GAHAN, J. B., 1948. Susceptibility of DDT-resistant Houseflies to other insecticidal Sprays. Science, 107. New York.

WINTERINGHAM, F. P. W., LOVEDAY, Patricia M. & HARRISON, A., 1951. Resistance of Houseflies to DDT. Nature, Vol. 167. London.

ZACHER, F., Pulverförmige Bekämpfungsmittel gegen Getreideschädlinge (Discource; non-dated, duplicated paper received in April 1952).